康宁生命科学（吴江）有限公司
江苏省吴江市经济开发区
庞金路 1801 号 T03/17
www.corning.com/lifesciences/china

使用指南

产品：Corning® Matrigel®高浓度无酚红基底膜基质，10 mL瓶

产品目录号：354262

背景： 在体内，基底膜是以细胞为基础的薄层细胞外基质。康宁高浓度(HC)无酚红基底膜基质是一种可溶性的基底膜制剂，这种基质是从Engelbreth-Holm-Swarm (EHS)小鼠肉瘤，一种富含细胞外基质蛋白的肿瘤中抽提出来的。它的主要成分是层粘连蛋白，接着是胶原蛋白Ⅳ、硫酸乙酰肝素蛋白多糖和巢蛋白 [1,2]。康宁高浓度无酚红基底膜基质也含有转化生长因子 β、表皮生长因子、类胰岛素生长因子、成纤维细胞生长因子、组织纤溶酶原激活物 [3,4] 和在 EHS 肿瘤中自然出现的其他生长因子。康宁高浓度无酚红基底膜基质对正常和变换的锚定依赖型上皮样细胞和其他细胞类型的附着和分化是有效的。这些细胞类型包括神经元 [5,6]、肝细胞 [7]、支持细胞 [8,9]、小鸡晶状体上皮细胞 [10] 和血管内皮细胞 [11]。在成年大鼠肝细胞 [12,13]、血管内皮细胞 [14] 以及小鼠 [15-18] 和人 [19,20] 乳腺上皮细胞的三维细胞培养中，康宁高浓度无酚红基底膜基质会影响基因的表达。这是几种类型肿瘤细胞侵袭的基础 [21,22]，支持体内末梢神经再生 [23-25]，并提供体外 [26,27] 和体内 [28-30] 血管再生研究的必需底物。康宁高浓度无酚红基底膜基质也支持在免疫抑制小鼠中人类肿瘤的增殖 [31-33]。康宁高浓度无酚红基底膜基质可用于未分选乳腺细胞的移植 [34]，以及嵌入在康宁基底膜基质中分选的上皮细胞亚群的移植 [35,36]。这一基质也已经被用作癌症干细胞模型并已经证明能在体内增强肿瘤生长速率 [37]。

来源： Engelbreth-Holm-Swarm (EHS)小鼠肿瘤

制剂： 含有 50 µg/mL 庆大霉素的达尔伯克改良伊格尔培养基。
康宁高浓度无酚红基底膜基质适合所有的培养基。

储存： 当储存在-20 ℃时是稳定的。通过进行分装并使用一次性分装物应该可以最小化冻融。请在-20 ℃ 储存分装物直到使用。**不要储存在无霜冰箱中。保持冻结。**

有效日期： 康宁高浓度无酚红基底膜基质的有效日期是批次特异的，您可以在产品的分析证明书中找到。

注意： 因为康宁高浓度无酚红基底膜基质会在 10 ℃ 以上凝胶化，所以及其重要的是康宁高浓度无酚红基底膜基质和接触康宁高浓度无酚红基底膜基质的所有培养皿或培养基都需要预冷/冰冷。请将康宁基底膜基质全程保持在冰上。

重构和使用： 请将小瓶淹没在冰中并放置在 4 ℃ 冰箱里过夜解冻 Corning® Matrigel®

康宁生命科学（吴江）有限公司
江苏省吴江市经济开发区
庞金路 1801 号 T03/17
www.corning.com/lifesciences/china

高浓度无酚红基质。一旦康宁基底膜基质被解冻，请涡旋小瓶以确保材料的均匀分散。请将康宁基底膜基质全程保持在冰上。请使用无菌技术处理。请将解冻的康宁高浓度无酚红基底膜基质放置在无菌的区域，在小瓶的顶部喷洒 70%的乙醇并风干。

使用预冷的移液管轻柔的吸取康宁高浓度无酚红基底膜基质以确保其均匀性。将康宁高浓度无酚红基底膜基质分装到离心管中，每当康宁高浓度无酚红基底膜基质堵塞吸头和/或移液管测量不精确时请更换吸头。如果将材料放置在 4℃ 的冰上 24-48 个小时，凝胶化的康宁高浓度无酚红基底膜基质可能会被重新水化。

康宁高浓度无酚红基底膜基质可以被用来作薄层凝胶(0.5 mm)，细胞可以接种在其顶部。当作为 1 mm 凝胶层使用时，细胞也可以在康宁高浓度无酚红基底膜基质的内部培养。大量的稀释将会导致一个薄的、非凝胶化的蛋白层。这对于细胞附着是有用的，但是在分化研究中可能不起作用。通过皮下注射进小鼠(康宁人工基底膜栓实验)，康宁高浓度无酚红基底膜基质可以用来评估体内不同化合物的血管再生活力 [2,8,26]。高蛋白浓度加快了肿瘤的生长 [37-39] 并且也在注射之后允许康宁基底膜基质栓维持其完整性。对于原位分析和/或之后的切除，这保持了注射的肿瘤和/或血管生成化合物的定位。

注意：在康宁支持网页上发布了具体的应用程序*。康宁基底膜基质产品的蛋白质浓度是批次特异的并提供在分析证明书上。通过计算需要的特定蛋白浓度(mg/mL)获得了稀释康宁基底膜基质产品的一致结果。为了维持凝胶化的一致性，我们推荐不要将康宁基底膜基质稀释到少于 3 mg/mL。请使用冰冷的无血清培养基来稀释康宁基底膜基质。冰冷的培养基能够被直接加入到康宁高浓度无酚红基底膜基质药瓶中，并且请按照“重构和使用”部分推荐的方法解冻。通过在冰上移液管上下吸液或涡旋药瓶来混合。

注射方法：

1. 在注射入小鼠之前，重要的是保持康宁高浓度无酚红基底膜基质和康宁基底膜基质/细胞悬液尽可能的冰冷，但不要冻结。在执行程序的全过程中最重要的是保持康宁基底膜基质和康宁基底膜基质/细胞悬液尽可能无菌。
2. 对每一个受体小鼠，请冰上混合细胞($2x10^5$ 或更高)和康宁高浓度无酚红基底膜基质，使终体积为 0.5 ml。
3. 细胞的体积应该尽可能的小。通常，含有 $2x10^6$ 个细胞/ml 的 250 µl 冰冷的培养基将和 250 µl 冰冷的康宁高浓度无酚红基底膜基质混合。
4. 对于组织样品使用 19G 针，对于培养的细胞使用 23G 针来对无胸腺小鼠进行皮下注射。注射应该尽快完成以防止康宁高浓度无酚红基底膜基质凝固。
5. 当取出针头时请旋转注射器以防止渗漏。由于凝胶堵塞针头需要频繁更换。

康宁生命科学（吴江）有限公司
江苏省吴江市经济开发区
庞金路 1801 号 T03/17
www.corning.com/lifesciences/china

注意：获取这一应用的更多细节信息请访问 www.corning.com/lifesciences 来获取 CLS-DL-CC-036(技术通报 445：Corning® Matrigel®基质移植入小鼠和组织固定的方法)

细胞复苏：

中性蛋白酶(商品目录号 354235)，康宁细胞复苏溶液(商品目录号 354253)

使用康宁细胞复苏溶液可以实现生长在康宁高浓度无酚红基底膜基质上的细胞最有效的复苏，在冰上康宁细胞复苏溶液和中性蛋白酶可以在 7 小时内解聚康宁高浓度无酚红基底膜基质，或者使用中性蛋白酶，其是一种金属酶可以在连续培养中轻柔的释放细胞。

***注意**：获取技术资料请访问支持页 www.corning.com/lifesciences。

参考文献：

1. Kleinman HK, et al, Isolation and characterization of type IV procollagen, laminin, and heparan sulfate proteoglycan from the EHS sarcoma, Biochemistry 21:6188 (1982).
2. Kleinman HK, et al, Basement membrane complexes with biological activity, Biochemistry 25:312 (1986).
3. Vukicevic S, et al, Identification of multiple active growth factors in basement membrane Matrigel suggests caution in interpretation of cellular activity related to extracellular activity related to extracellular matrix components, Exp Cell Res 202:1 (1992).
4. McGuire PG and Seeds NW, The interaction of plasminogen activator with a reconstituted basement membrane matrix and extracellular macromolecules produced by cultured epithelial cells, J. Cell. Biochem. 40:215 (1989).
5. Biederer T and Scheiffele P, Mixed-culture assays for analyzing neuronal synapse formation, Nat Protoc 2(3):670 (2007).
6. Li Y, et al, Essential Role of TRPC channels in the guidance of nerve growth cones by brain-derived neurotrophic factor, Nature 434:894 (2005).
7. Bi Y, et al, Use of cryopreserved human hepatocytes in sandwich culture to measure hepatobiliary transport, Drug Metab Dispos. 34(9):1658 (2006).
8. Gassei K, et al, Immature rat seminiferous tubules reconstructed in vitro express markers of Sertoli cell maturation after xenografting into nude mouse hosts, Mol Hum Reprod. 16(2):97 (2010).
9. Yu X, et al, Essential role of extracellular matrix (ECM) overlay in establishing the functional integrity of primary neonatal rat sertoli cell/gonocyte co-cultures: An improved in vitro model for assessment of male reproductive toxicity, Toxicol Sci 84(2):378 (2005).
10. Chandrasekher G, and Sailaja D, Differential activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling during proliferation and differentiation of lens epithelial cells, Invest Ophthalmol Vis Sci. 44(10):4400 (2003).
11. McGuire PG, and Orkin RW, A simple procedure to culture and passage endothelial cells from large vessels of small animals, Biotechniques 5(6):456 (1987).
12. Bissel DM, et al, Support of cultured hepatocytes by a laminin-rich gel. Evidence for a functionally significant subendothelial matrix in normal rat liver, J. Clin Invest. 79:801 (1987).
13. Page JL, et al, Gene expression profiling of extracellular matrix as an effector of human hepatocyte phenotype in primary cell culture, Toxicol Sci 97(2):384 (2007).
14. Cooley LS, et al, Reversible transdifferentiation of blood vascular endothelial cells to a lymphatic-like phenotype in vitro, J Cell Sci. 123(Pt 21):3808 (2010).
15. Li ML, et al, Influence of a reconstituted basement membrane and its components on casein gene expression and secretion in mouse mammary epithelial cells, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:136 (1987).
16. Barcellof MH, et al, Functional differentiation and aveolar morphogenesis of primary mammary cultures on reconstituted basement membrane, Development 105:223 (1989).
17. Roskelley CD, et al, Extracellular matrix-dependent tissue-specific gene expression in mammary epithelial cells requires both physical and biochemical signal transduction, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91(26):12378 (1994).
18. Xu R, et al, Extracellular matrix-regulated gene expression requires cooperation of SWI/SNF and transcription factors, J. Biol. Chem. 282(20):14992 (2007).
19. Debnath J, et al, Morphogenesis and oncogenesis of MCF-10A mammary epithelial acini grown in three-

康宁生命科学（吴江）有限公司
江苏省吴江市经济开发区
庞金路 1801 号 T03/17
www.corning.com/lifesciences/china

dimensional basement membrane cultures, Methods 30(3):256 (2003).
20. Muthuswamy SK, et al, ErbB2, but not ErbB1, reinitiates proliferation and induces luminal repopulation in epithelial acini, Nat. Cell Biol. 3(9):785 (2001).
21. Albini A, et al, A rapid in vitro assay for quantitating the invasive potential of tumor cells, Cancer Res,47:3239 (1987).
22. Poincloux R, et al, Contractility of the cell rear drives invasion of breast tumor cells in 3D Matrigel, Proc Natl Acad Sci USA.108(5):1943 (2011).
23. Madison R, et al, Increased rate of peripheral nerve regeneration using bioresorbable nerve guides and laminin containing gel, Exp. Neurology 88:767 (1985).
24. Xu XM, et al, Axonal regeneration into Schwann cell-seeded guidance channels grafted into transected adult rat spinal cord, J. Comp. Neurol. 351(1):145 (1994).
25. Lopatina T, et al, Adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves: BDNF secreted by these cells promotes nerve healing and axon growth de novo, PLoS One 6(3):e17899 (2011).
26. Kubota Y, et al, Role of laminin and basement membrane in the morphological differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures, J. Cell Biol. 107:1589 (1988).
27. Ponce ML, Tube formation: an in vitro matrigel angiogenesis assay, Methods Mol Biol. 467:183 (2009).
28. Passaniti A, et al, A simple, quantitative method for assessing angiogenesis and anti-angiogenic agents using reconstituted basement membrane, heparin, and fibroblast growth factor, Lab Invest. 67:519 (1992).
29. Isaji M, et al, Tranilast inhibits the proliferation, chemotaxis and tube formation of human microvascular endothelial cells in vitro and angiogenesis in vivo, Br J Pharmacol 122:1061 (1997).
30. Adini A, et al, Matrigel cytometry: a novel method for quantifying angiogenesis in vivo, J Immunol Method. 342(1-2):78 (2009).
31. Albini A, et al, Matrigel promotes retinoblastoma cell growth in vitro and in vivo, Int. J. Cancer 52(2):234 (1992).
32. Yue W, and Brodie A, MCF-7 human breast carcinomas in nude mice as a model for evaluating aromatase inhibitors, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 44(4-6):671 (1993).
33. Angelucci A, et al, Suppression of EGF-R signaling reduces the incidence of prostate cancer metastasis in nude mice, Endocr-Relat Cancer 13(1):197 (2006).
34. Moraes RC, et al, Constitutive activation of smoothened (SMO) in mammary glands of transgenic mice leads to increased proliferation, altered differentiation and ductal dysplasia, Development 134:1231 (2007).
35. Zeng YA, and Nusse R, Wnt proteins are self-renewal factors for mammary stem cells and promote their long-term expansion in culture, Cell Stem Cell 6:568 (2010).
36. Jeselsohn R, et al, Cyclin D1 kinase activity is required for the self-renewal of mammary stem and progenitor cells that are targets of MMTVErbB2 tumorigenesis, Cancer Cell 17:65 (2010).
37. Quintana E, et al, Efficient tumor formation by single human melanoma cells, Nature 456:593 (2008).
38. Anai S, et al, Dual targeting of Bcl-2 and VEGF: a potential strategy to improve therapy for prostate cancer, Urol Oncol 29:421 (2011).
39. Cao J, et al, A subretinal matrigel rat choroidal neovascularization (CNV) model and inhibition of CNV and associated inflammation and fibrosis by VEGF trap, Invest Ophthalmol Vis Sci 51:6009 (2010).

《加尼福尼亚州65提案》公告

警告：该产品含有加尼福尼亚州已知的会造成癌症的化学药品。
成分：**三氯甲烷**

在美国订购请联系客户服务：
电话：800.492.1110，传真：978.442.2476；电子邮箱：CLSCustServ@corning.com

寻求技术帮助，请联系技术支持：
电话：800.492.1110，传真：978.442.2476；电子邮箱：CLSTechServ@corning.com

康宁生命科学（吴江）有限公司
江苏省吴江市经济开发区
庞金路 1801 号 T03/17
www.corning.com/lifesciences/china

美国之外地区，请联系您当地的经销商或访问www.corning.com/lifesciences来查询您最近的康宁办公室。